

让肠道告诉你...

都润肠讯

都润肠道健康研究中心主办

14
第十四期

微生物特异性代谢物
对机体健康和疾病的影响 (I)

饲用肠球菌的益生功能及其安全性评价

dorun
for the real health

contents



基础理论:

微生物特异性代谢物
对机体健康和疾病的影响 (I) ----- **03**



研究进展:

饲用肠球菌的益生功能
及其安全性评价 ----- **10**

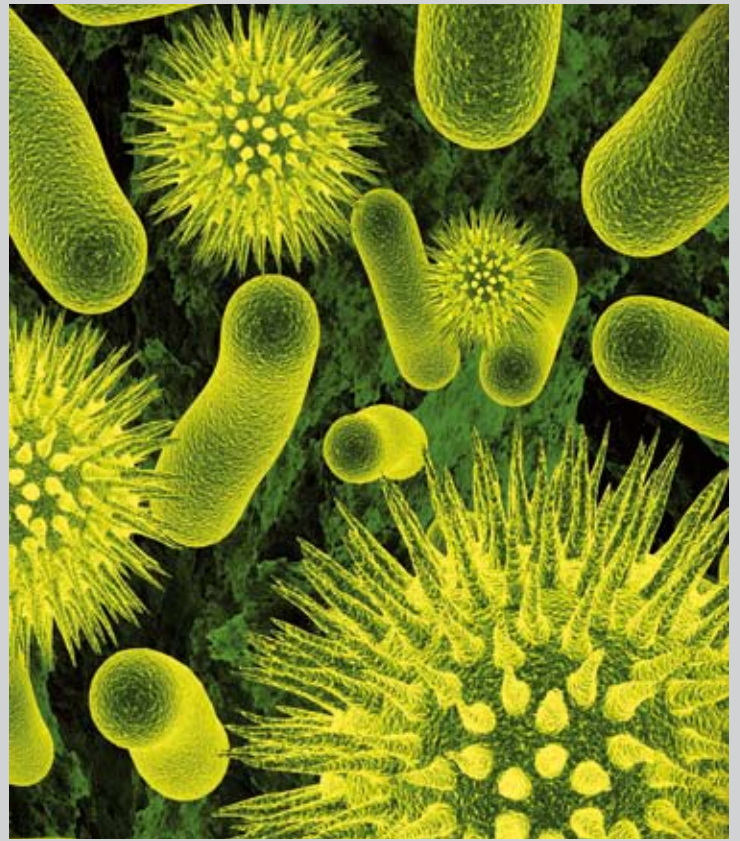


专家观点 ----- **14**

基础理论

微生物特异性代谢物 对机体健康和疾病的影响 (I)

微生物菌群以及其微生物的基因组在人类健康中起着关键作用。宿主和微生物之间相互作用影响到免疫、代谢、发育和行为,并可能通过肠道菌群失调导致疾病。尽管不同条件下微生物菌群的变化仍在研究中,宿主和微生物之间的信号机制仍然难以捉摸。本文将讨论微生物代谢产物的合成、吸收以及对宿主生理的潜在影响。我们认为特异性代谢物对宿主的影响可以解释目前关于最初的菌群定植扩张时期肠道微生物群与宿主生理机制之间的联系,以及对健康和疾病影响的知识空白。



介绍

人体内的微生物细胞数量是真核细胞的十倍，在全基因组中也是多出了两个数量级。他们对健康和疾病的重要性是不容置疑的，虽然长久以来一直被忽视。细菌宏基因组产生初级代谢产物，并将小分子转化为次级代谢物，也称为“特异性代谢物”。细菌代谢的产物在许多方面被认为可以调节人体健康。微生物和人类代谢物之间的对话对许多机体活动有影响，如营养吸收，异生物质代谢，防止病原体感染，调节肠道神经系统，免疫调节，抗结肠癌和复杂的神经行为，并且影响血清脂质和胆固醇水平。人体的代谢途径是人类基因组和微生物组共同活动的结果。

饮食结构对于微生物菌群及其代谢物有重要影响，因为食物是代谢产物前体的主要来

源。饲喂小鼠多糖缺陷型日粮导致微生物菌群和代谢与常规日粮组不同。传统饲养模式下饲喂多糖缺陷型日粮与普通日粮的老鼠也明显不同。对于人类来讲，长期饮食模式和快速极端的饮食变化在微生物群落和宏基因组上有所体现。特别是氨基酸摄入对微生物群落变化产生的影响。例如，氨基酸摄入的增加使得相应的拟杆菌门相对丰富并改变了代谢组。同一时期，以食肉为主的人在食用没有纤维的饮食两天后与素食人群在肠道组成上相比，表现为乙酸和丁酸水平的降低。

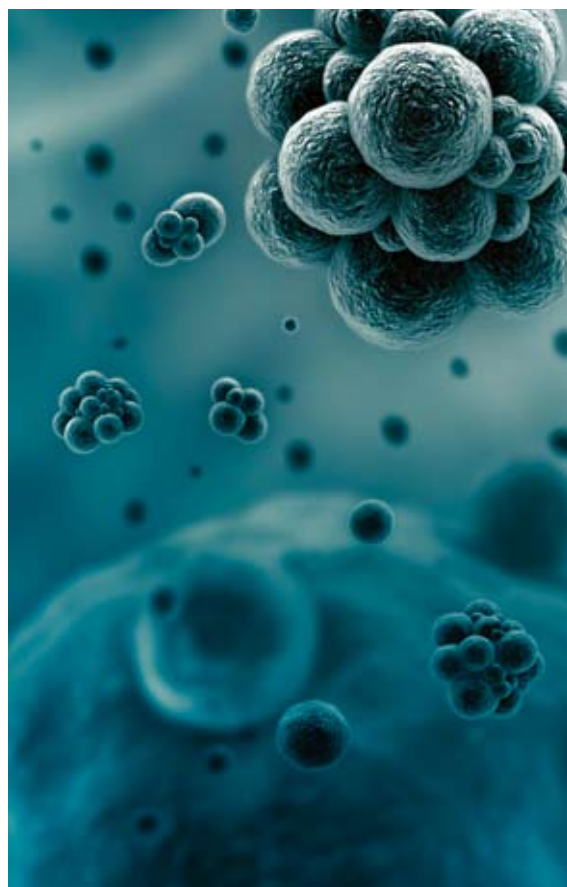
能量的平衡不但取决于饮食而且取决于微生物组的组成。夸希奥科病（Kwashiorkor）一种严重的营养不良的疾病，可以通过粪便由人传播到小鼠。具体地说，采集人类双胞胎的粪便样本接种小鼠，其中一个营养不良型。其在受体小鼠体内则

产生明显的不同。接种了营养不良型微生物的小鼠饲喂传统日粮后在短短三周内体重下降了30%，而接种的健康人体微生物的小鼠则保持正常体重。这些微生物组的差异根据氨基酸、碳水化合物和脂肪代谢的不同而不同，甚至在相同的日粮和饮食条件下。饲喂不同日粮的反应也根据微生物组的不同而有差异：用营养丰富的、高能量的膳食进行补充能够把小鼠从严重的营养不良中拯救出来，但仍然和接种健康微生物的小鼠在微生物组成上有差别。这项研究反映了微生物组成和日粮在代谢过程的重要性，并影响疾病的产生。

另一个代谢的极端，肠道微生物组、代谢组和饮食也可以调节肥胖。将从瘦的和肥胖小鼠体内分离出的微生物接种到无菌鼠体内。瘦的小鼠元基因组中富含编码发酵植物来源碳水化合物的蛋白的基因。瘦的和肥胖小鼠共同饲喂可以减轻肥胖的情况。低脂肪、高植物多糖的饮食可以促进同住的肥胖的小鼠减肥，而高饱和脂肪的饮食和低植物的日粮对于共同饲喂的小鼠没有明显改变肥胖的情况。共同饲养的肥胖小鼠在低脂日粮条件下，其代谢物也不同。小鼠肠道的元基因组中有许多编码对降解复杂碳水化合物代谢的初始步骤很重要的酶。当微生物富集之后，在这些小鼠的盲肠端碳水化合物发酵产品（即丙酸和丁酸）明显增加。显然，膳食中复杂的可消化多糖可能影响到微生物对宿主的影响。

以哺乳动物为宿主的粘膜表面共生微

生物在处理环境信号，传达“消息”到上皮细胞以及穿越循环系统中起着至关重要的作用。传统认为是微生物相关分子模式(MAMPs)起作用，常见的各种微生物或者是代谢产物通过分泌或内分泌信号传达到宿主。通常，这些代谢产物是有益的。例如，未知的共生皮肤细菌可以分泌某些物质诱发人类产生抗菌肽来调节人类的先天性免疫反应。人类微生物组的一个重要功能是提供被肠道吸收的基本维生素，包括维生素K、维生素B₁₂、维生素、叶酸、硫胺素、核黄素和吡哆醇。最近的一些报告已经证实特定微生物代谢产物与肠道细菌之间超越传统的关联，



可能代表了哺乳动物和微生物菌群间密切化学联系的早期进展。很有可能绝大多数跨界的通信分子仍然未知。

在此,我们综述了与主要的初级产物和特异性的代谢物相关的代谢途径, 及其可能的

发病机制。接下来的研究在于了解特异性代谢物的作用,关注在肠道吸收后的产物,以及如何循环到目标地点(图1)。意在更好地理解更多疾病并探索新的治疗方法。

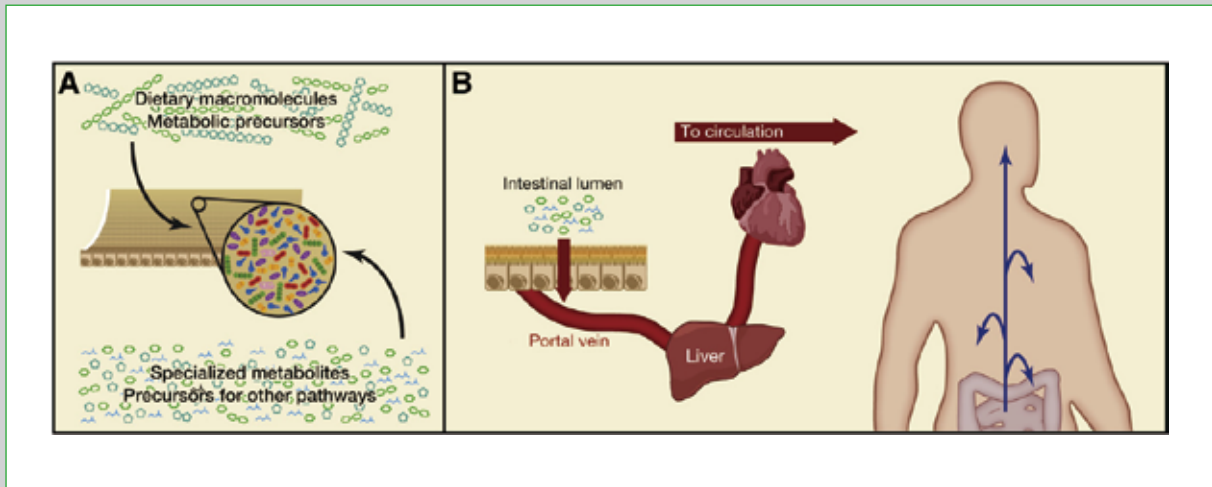


图1 代谢过程中吸收的产物如何到达目标地点

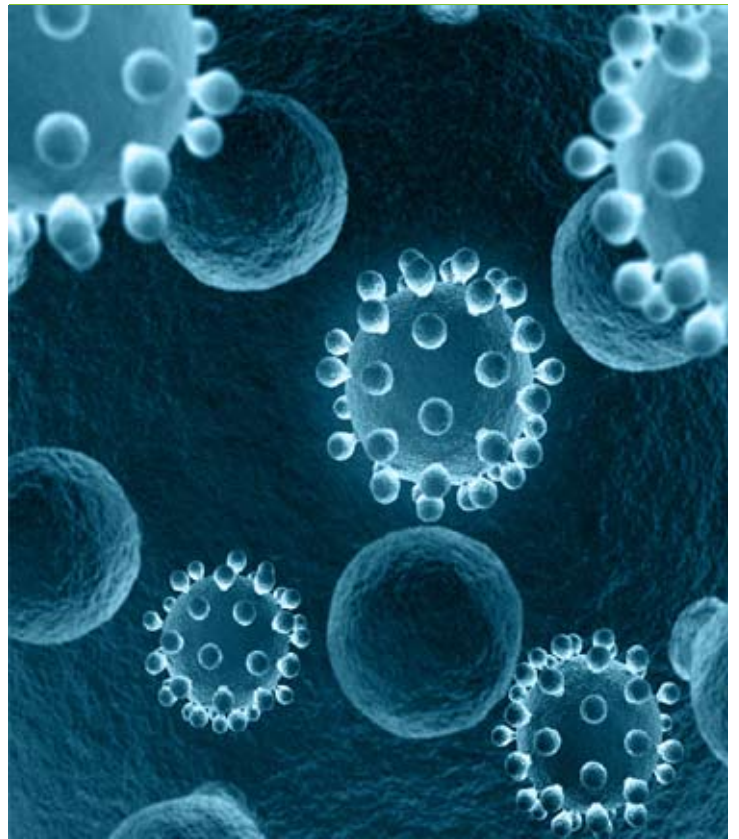
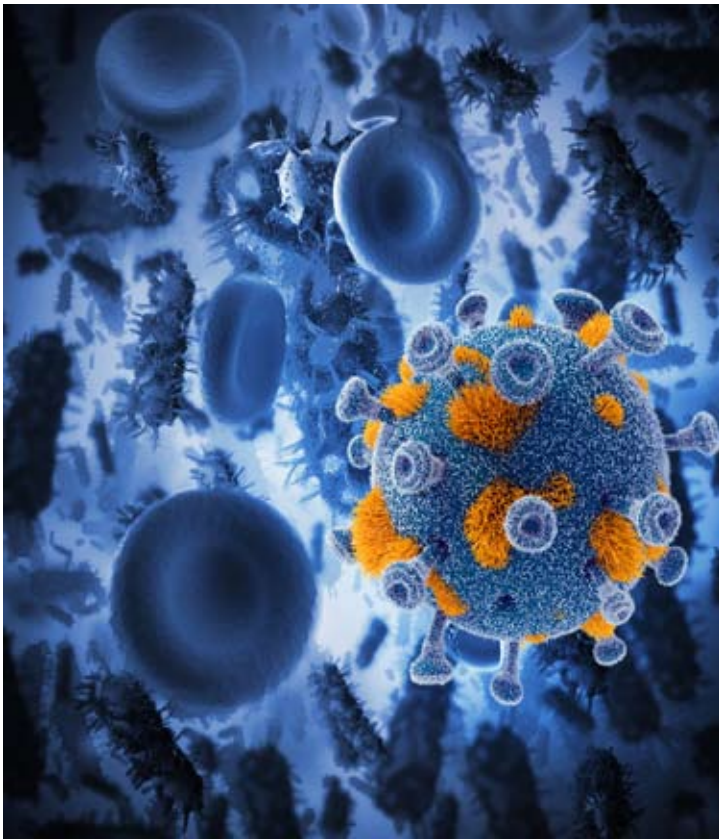
从饮食或代谢前体中产生的微生物代谢产物,特异性代谢物通过上皮吸收屏障(A)。特异性代谢产物吸收的主要场所是小肠,代谢物穿过肠道上皮细胞,通过门静脉和肝脏进入循环中。一旦进入循环中,代谢产物将前往哺乳动物宿主(B)不同的目标位点(器官、组织、细胞等等)。

宏基因组, 宏转录组及代谢产物

微生物的宏基因组根据其代谢产物进行分类鉴定。宏基因组可在微生物环境下分析基因编目,而且可以从机理上解释疾病相关的代谢变化。在系统水平将患有肥胖症或肠炎(IBD)的个体宏基因组与健康人群进行比较会发现,疾病状态与具有代谢途径起止作用的酶减少或增加有关。而且,微生物宏基因组的变化即转化为代谢的变化。将肥胖人群体内微生物移植到小鼠体中,会发现小鼠

的丁酸发酵基因减少,其盲肠中丁酸水平也同时降低。尽管宿主和外界环境中宏基因组代谢活动的粗略预测仍然是有用的,不同物种间水平基因转移,以及16S rRNA基因测序较差的种级水平解析度会限制直接代谢预测的准确性。

宏基因组测序也揭示宿主体内病原菌是如何适应微生物多重感染。将囊胞性纤维症患者和健康人群粘滑罗斯菌基因组测序,通过编码乳酸脱氢酶的多个基因可使得宿主及寄居的病原菌所产生的乳酸得以利用,从而



揭示出这种适应性。其它适应方式包括噬菌体细胞溶解酶获得性基因，与水平基因转移及据猜测在生物膜调节中起作用（即CRISPR因子）有关的基因修饰。宏基因组预测可能通过宏转录组学和宏蛋白质组学分析改善精确度。由于存在一种基因不能确保相关蛋白的表达，上述方法有可能有助于人们了解感兴趣酶调节的机理。细菌蛋白表达通过多种机制在转录和翻译水平进行调控。表达水平的技术在检查细菌功能突然变化过程中可能特别有用。整合技术可能提供细菌与其代谢产物间比现在已知的更多更直接的关联。

微生物代谢物的合成与宿主代谢的关系

研究微生物途径对人类健康的影响，其

代谢物包括短链脂肪酸(SCFAs)：丙酸、丁酸、乙酸。微生物在结肠中发酵复杂的非消化性多糖的终产物及其在代谢和免疫作用多年来一直是研究的重点。这有助于防止感染和炎症,各种免疫细胞不同亚群的再生、成熟和新陈代谢,微生物和宿主之间相互作用。SCFAs与宿主的相互作用在以下几个方面:通过特异性G蛋白偶联受体(GPR)-41和-43抑制组蛋白去乙酰酶抑制剂(HDAC),从而改变宿主基因的表达并诱导自噬。

SCFAs是导致肥胖和糖尿病的诱因。Cho 等(2012)已经报道盲肠的SCFAs水平的增加导致肝脂肪产生的增加,在小鼠上已经开始在其早期用一定剂量的抗生素进行治疗。有趣的是,葡萄糖依赖性促胰岛素肽(GIP)水平在小鼠治疗过程中得以增加,而不是其他代谢相关的激素。GIP在肥胖和糖尿病发挥



重要的作用。像GIP一样，胰高血糖素样肽(GLP-1)在肥胖和糖尿病中起到重要作用。在饲喂之后，发送饱腹感的信号，刺激胰岛素在肠道分泌后进行释放。有趣的是，GLP-1的水平是通过微生物菌群分泌的SCFA(特别是丁酸)进行调节的。综上所述，这些微生物菌群通过代谢物和激素来调节新陈代谢也就是特异性代谢产物如何在宿主健康的发挥重要作用。

丙酸的产生对人体健康、促进饱腹感，防止脂肪肝，降低胆固醇，并提供抗癌的活动中尤其重要。最近的研究显示其参与肠道中与脑部的沟通以及糖质的新生。人类肠道细菌丙酸的形成途径通过多种方法进行研究(由简并引物PCR扩增,16S rRNA基因分

析,tblastn分析和微生物生理学),突出了人类肠道中优势微生物和微生物对丙酸的影响。琥珀酸途径可能是人类肠道中最丰富的丙酸形成途径，它是目前在拟杆菌门(肠道内最丰富的门)和*Negativicutes*。通过丙二醇通路进行合成途径主要存在于毛螺菌科和可能是最重要利用脱氧糖的途径，例如宿主聚糖中的鼠李糖和海藻糖等。丙烯酸酯途径是并不常用,在人类肠道中通过*Coprococcus catus*确定了这个途径。丙酸和丁酸途径主要在不同的厌氧细菌组中发挥作用。这些研究表明,未来辨别健康人类的特定微生物可以通过从元基因组中了解生物合成途径来进行。

细菌和宿主产生的酶与复杂的代谢途径相关联。例如,神经递质血清素(5-羟色胺)是

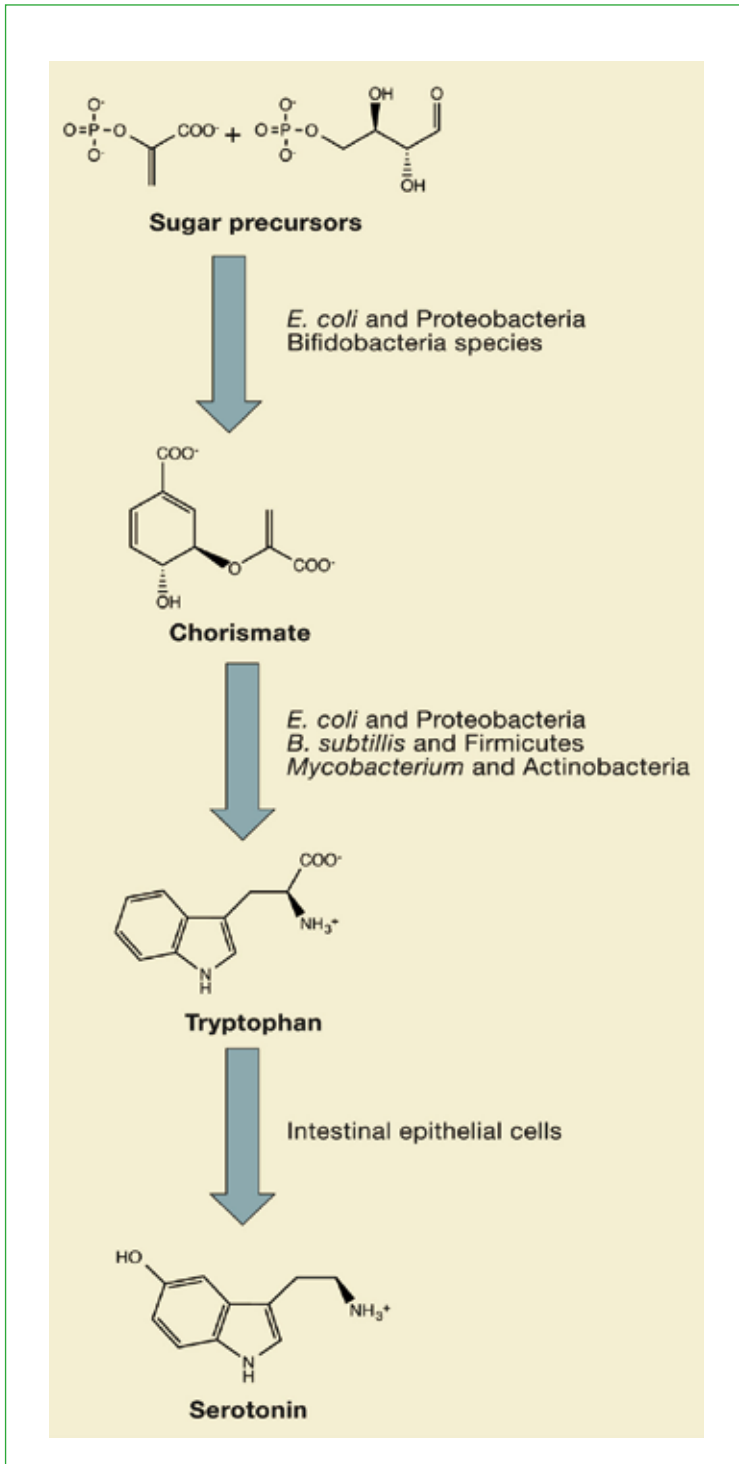


图2 血清素和色氨酸生物合成

血清素来源于色氨酸，色氨酸是一种重要的氨基酸，必须从饮食或微生物中获得。色氨酸生物合成从磷酸戊糖开始，环化成分支酸。分支酸是分支点和是合成色氨酸的前体。通过减少肠道上皮细胞通过脱羧将色氨酸转化为5-羟色胺。

一种特异的代谢物合成通过宿主和微生物之间的相互作用(图2)。从分支酸合成色氨酸需要的细菌类群包括变形菌门、放线菌、厚壁菌门，通过复杂的操纵子编码酶的基因。抗生素治疗的小鼠体内色氨酸和吲哚代谢发生改变。

短链脂肪酸和吲哚可以用来标记微生物代谢途径。SCFAs是通过不同途径发酵各种不同的糖。5-羟色胺和色氨酸的生物合成反映了宿主和微生物之间的相互作用产生特异性代谢物。这些例子可能为新颖的代谢途径提供了一个框架证实宏基因组的预测使用综合的方法，包括微生物基因组学、微生物群落分析、微生物生理学。

注：本文出自“Specialized Metabolites from the Microbiome in Health and Disease”



研究进展

饲用肠球菌的益生功能及其安全性评价

肠球菌 (*Enterococcus*) 广泛存在于人和动物肠道内，属肠球菌属，革兰氏阳性 (G^+) 球菌，无芽孢，无鞭毛，为需氧或兼性厌氧菌。猪肠道内肠球菌主要为屎肠球菌、粪肠球菌、小肠肠球菌和盲肠肠球菌，粪便中则以屎肠球菌为主。目前生产实践中最常用的益生肠球菌也是屎肠球菌和粪肠球菌。我国农业部2013年底发布的第2045号公告《饲料添加剂品种目录》也将粪肠球菌和屎肠球菌划为批准使用的饲料级微生物菌种。

1. 肠球菌的益生功能

1.1 抑制病原微生物

作为肠道正常菌群，肠球菌主要通过以下两种方式发挥有效抑制肠道病原菌，维护宿主肠道健康的作用。

(1) 黏附拮抗效应

肠球菌可以通过竞争性抑制发挥生物屏障作用从而保护宿主肠道健康，其原理是肠球菌通过黏附素与肠黏膜上皮细胞受体黏附，与病原菌竞争肠道内表面定殖位点，并与其争夺营养物质，从而抑制病原菌的定植。

(2) 产生抑菌物质

肠球菌在肠道中发酵可以产生大量的有机酸，其主要成分是乳酸，可以有效抑制病原菌的增殖。此外，肠球菌还可以通过核糖体合成机制产生一些小的阳离子抗菌肽，即肠道菌素，可以抑制一些革兰氏阳性腐败菌和致病菌。除此之外，肠球菌对衣原体、寄生虫等其他病原微生物也起到一定的抑制作用。



1.2 增强免疫功能

作为肠道菌群重要的组成部分，肠球菌大量的定植可以影响散布于肠相关淋巴组织中淋巴细胞的功能，激活全身免疫系统，有助于诱导和维持动物对营养抗原的免疫耐受，从而改善动物健康，增强对病原菌的抵抗力。

1.3 降低胆固醇

大量的研究表明一些肠球菌可以起到降低人体高血胆固醇的作用，对猪的相关研究也表明相同的作用。崔德凤等（2009）从健康猪的胃肠道分离出12株肠球菌，在体外降胆固醇试验中发现这12株肠球菌均表现出了降解血清胆固醇的作用，降解率为16.67%~48.00%。。

2. 肠球菌的安全性评价

2.1 肠球菌为条件致病菌

一般而言，肠球菌的毒力不高，以往研究也一直认为肠球菌是对人体和动物无害的共生菌。然而近年来许多研究表明，当宿主免疫力低下时（如抗生素的大量使用），宿主与肠球菌之间的共生平衡状态被打破，肠球菌离开正常定植部位，进入其他组织器官，并通过黏附素作用定植于此，当数量逐渐增多，超过一定程度（阈值）时，其所分泌的致病因子将侵袭破坏宿主细胞，并且耐受宿主的非特异性免疫应答，从而引起病理改变，导致感染。因此，现在认为肠球菌为条件致病菌，具有潜在致病性。以粪肠球

菌为例，粪肠球菌产生的多形核白细胞趋化因子可介导或至少是部分介导通常与肠球菌属感染有关的炎症反应，此外，其在发酵状态下会生成“超氧化物”，破坏周围细胞的DNA，甚至促成致癌基因活动。屎肠球菌与粪肠球菌均为常用的饲用菌，虽然现在还没有直接研究表明屎肠球菌也有此类致病性，但其使用同样值得警惕和慎重。

2.2 肠球菌的耐药性

肠球菌因其细胞壁坚硬且厚，对许多抗生素表现为固有耐药性，如上世纪70年代发现肠球菌对氨基糖苷类具有耐药性，上世纪80年代发现肠球菌对 β -内酰胺类及糖肽类具有耐药性。此外，还有一些其他作用机理，如肠球菌可生成一种特殊的青霉素结合蛋白，降低其与青霉素的亲和力，从而表现出对青霉素的耐药性。近年来，由于抗生素的广泛使用，肠球菌获得性耐药表现越来越多，而且许多肠球菌表现出多重耐药性。此外，肠球菌耐药性还表现为耐受性。

如果在生产实践中肠球菌的筛选和使用不当，肠球菌表现出致病性，引发动物感染，其治疗将极其麻烦。一方面肠球菌的耐药性使得抗生素治疗效果不理想，另一方面，肠球菌的耐药性可以水平传递给其他致病菌，导致动物内多种致病菌的耐药性整体提高。

2.3 肠球菌的致病因子

肠球菌的致病机制如前文所述，但感染过程为许多因子综合作用，极其复杂。这些致病因子以致病基因及其所表达的蛋白产物为主，主要有溶血素、明胶酶E (gelE)、表面蛋白 (esp)、胶质蛋白黏附素 (Ace/Acm)、心内膜炎抗原 (EfaA)、聚集物质 (AS) 等。

虽然已被广泛使用，但肠球菌的潜在致病性和耐药性都是极大的安全隐患，如不能妥善处理，其在生产实践中将存在极大的安全风险，且存在被禁止使用的可能。因此肠球菌的使用必须在进一步深入研究，彻底阐明肠球菌的致病机制，确保其不存在耐药基因和毒力基因的基础上。

——《饲料研究》肠精灵论坛2014年第12期



专家观点：

粪肠球菌是肠道中的正常优势菌群，也是农业部批准使用的益生菌。目前，已经发现粪肠球菌存在毒力因子，究其毒性和它的毒力因子是诱发产生的还是天生的还有待于进一步确认。如果存在没有毒力基因的粪肠球菌，或者在某种使用条件下其毒力基因不表达，抑或一些毒力基因在畜牧生产上或在人畜交叉这个安全问题上不是那么严重或者可以忽略不计，那么粪肠球菌仍可作为益生菌使用；如果不是这样，粪肠球菌可能会被禁用。

在不久的将来，可能会制定粪肠球菌产品标准，在使用之前应确认所用菌株不存在毒力基因，否则使用粪肠球菌作为益生菌存在安全风险。

—— 佟建明 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所

2014饲料微生物制剂应用技术国际研讨会 北京



肠精灵[®]

守护肠道健康

肠精灵[®] 家族



肠优[®]

猪专用枯草芽孢杆菌



肠佳[®]

蛋禽专用枯草芽孢杆菌



肠悦[®]

肉禽专用枯草芽孢杆菌



肠爽[®]

水产专用枯草芽孢杆菌



同源筛分

Homologous
screening



合生发酵

Synbiotic
fermentation

dorun[®]
for the real health

更多信息请致电 400-652-6899 或登录 www.dorunbio.com

都润 只为真健康

更多资讯请拨打“真健康”专线：400-652-6899
或登录 www.dorunbio.com



北京都润科技有限公司

地址：北京市海淀区中关村南大街12号农科院饲料所科研辅助楼505(100081)
电话：010-62159219 62159129 传真：010-62158831

Beijing Dorun Science & Technology Co., Ltd

Add.:No. 505 Feed affiliated building in Chinese Academy of Agricultural Sciences,
12 ZhongGuanCun South Avenue, Haidian District, Beijing(100081)
Tel: 010-62159219 62159129 Fax:010-62158831